

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Lehrstuhl für Toxikologie und Pharmakologie
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. C.-J. Estler

Interaktionen von
Äthinylöstradiol und Tetrazyklin
hinsichtlich des Fettstoffwechsels
weiblicher Mäuse

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Christoph Feiner
aus Regensburg

1984

1984 № 2 45

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Lehrstuhl für Toxikologie und Pharmakologie
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. C.-J. Estler

Interaktionen von
Äthinylöstradiol und Tetrazyklin
hinsichtlich des Fettstoffwechsels
weiblicher Mäuse

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Christoph Feiner
aus Regensburg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen - Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf

Referent: Prof. Dr. C.-J. Estler

Tag der mündlichen Prüfung: 28.05.1984

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	4
2. Methodik	9
Versuchstiere	9
Versuchsablauf	9
Analytik	14
Versuchsauswertung	15
3. Ergebnisse	16
a) Vorversuche	16
b) Hauptversuche	27
4. Tabellen und Abbildungen zu den Hauptversuchen	32
5. Diskussion	44
a) Wirkung von Äthinylöstradiol allein	44
b) Wirkung von Tetrazyklin allein	47
c) Wirkung von Äthinylöstradiol und Tetrazyklin	48
6. Zusammenfassung	51
7. Bibliographie	53

1. Einleitung

7-Chlor-tetrazyklin (vgl. Abb. 1) wurde 1948 als erstes Tetrazyklinderivat von B. M. Dugger entdeckt. Das wenig später entdeckte Tetrazyklin und seine Derivate gehören auch heute noch wegen ihrer geringen Toxizität und ihres breiten Wirkungsspektrums (Rhoades 1981, Cunha et al. 1982) in der Klinik zu den wichtigsten Chemotherapeutika.

Mit einer biologischen Halbwertszeit von 5,6 bis 9,3 Std. (Reuter 1972, Rhoades 1981, Cunha et al. 1982) sind Tetrazykline gut steuerbare Antibiotika. Die Ausscheidung erfolgt zu ca. 60% über die Nieren (glomeruläre Filtration) und zu 20 - 50% über den Stuhl (Galle ca. 7% und Darmwand) (Reuter 1972, Rhoades 1981, Cunha et al. 1982).

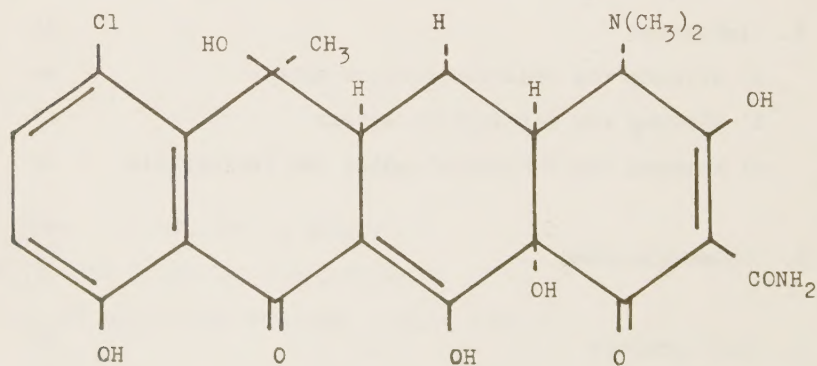


Abb. 1: Tetrazyklin - HCl

Im Serum liegen Tetrazykline zu 33 - 69% an Eiweiß gebunden vor (Reuter 1972, Cunha et al. 1982).

Bereits wenige Jahre nach der Einführung von Tetrazyklin in die Klinik (Ende der 40er Jahre) beschrieben einige Autoren hepatotoxische Nebenwirkungen dieses Antibiotikums.

Lepper et al. (1951a) z.B. beobachteten bei 14 Patienten, die Tetrazyklin oral und intravenös in hohen Dosen (Maximum 57g!) über kurze Zeit erhalten hatten, 7 mit klinisch ausgeprägter Leberinsuffizienz, wohingegen sie bei über 1300 Patienten mit nur oraler Behandlung bzw. i.v.- Dosen unter 2g/die keine Leberschädigung bemerkten.

12 Jahre später veröffentlichten Schultz et al. (1963) Kasuistiken von 6 Frauen, die wegen einer Pyelonephritis Tetrazyklin erhalten hatten (26 - 86mg/kg/die i.v.) und verstorben waren. Bei der Obduktion der Patientinnen fiel eine starke feintropfige Verfettung der Leber auf.

Ähnliche Beobachtungen berichteten Briggs (1963), Leonard (1964), Gough u. Searcy (1964), Dowling u. Lepper (1964), Whalley et al. (1964), Norman et al. (1964), Davis u. Kaufmann (1965), Winterling u. Goldman (1965) und Kunelis et al. (1965).

Allerdings äußerten einige Autoren Zweifel am kausalen Zusammenhang von Tetrazyklin und den beobachteten Leberschäden (Leonard 1963, Brewer 1965, Editorial Brit. Med.



J. 1964).

Auffällig war, daß die überwiegende Anzahl der kasuistisch mitgeteilten Patienten Frauen waren, oft in oder kurz nach der Schwangerschaft. Es stellte sich deshalb die Frage, ob hier das Zusammentreffen zweier potentiell hepatotoxischer Konstellationen (Tetrazyklinbehandlung und erhöhter Östrogenspiegel) eine Rolle spielt.

In der vorliegenden Arbeit sollte daher im Tierversuch an Mäusen untersucht werden, ob und gegebenenfalls inwieweit sich Tetrazyklin und Östrogen in ihrer hepatotoxischen Wirkung gegenseitig verstärken.

Für diese Untersuchung wurde als Östrogen das heute sehr oft gebrauchte Äthinylöstradiol (vgl. Abb. 2) verwendet. Es wurde 1938 durch Inhoffen und Hohlweg in die Therapie eingeführt.

Äthinylöstradiol besitzt ein "eigenes" Transportprotein (SHBG = sexual hormon binding globulin: Harper et al. 1975, Forth et al. 1977), woran es zu 60 - 70% gebunden ist (Ganong u. Auerswald 1974).

Der Abbau der natürlichen Östrogene in der Leber (Oxydation, Konjugation mit Glukuronsäure und Sulfat: Ganong u. Auerswald 1974, Harper et al. 1975) ist bei Äthinylöstradiol wegen der α -Äthinylgruppe am C₁₇-Atom nicht möglich (Lauritzen o.J.). Der größte Teil von Äthinylöstradiol wird über die Galle ausgeschieden und im Dünn-

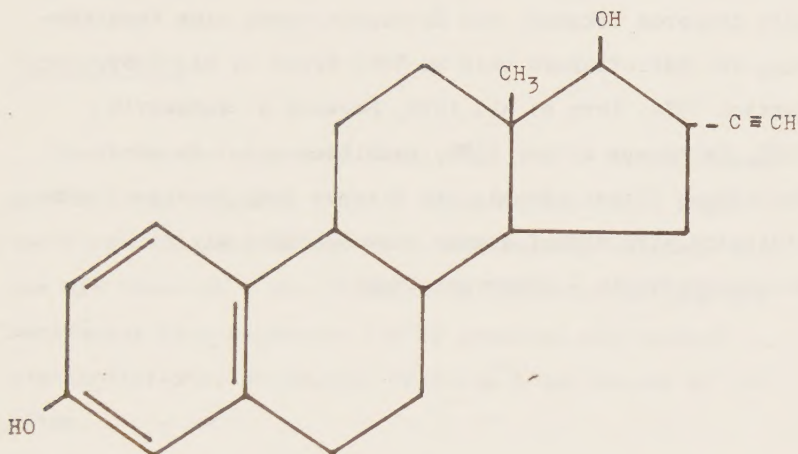


Abb. 2: Äthinylöstradiol

darm wieder rückresorbiert, so daß ein ausgeprägter enterohepatischer Kreislauf zustande kommt (Kreek et al. 1969, Ufer 1972, Ganong u. Auerswald 1974, Harper et al. 1975, Staiger 1982), ein geringer Teil wird über die Darmwand (ca. 30%: Staiger 1982) und über die Nieren (Harper et al. 1975) eliminiert. Die Halbwertszeit ist - bedingt durch den enterohepatischen Kreislauf - mit 32 - 35 Std. (Lauritzen o.J.) relativ hoch.

Ersten Berichten über die Hepatotoxizität von Östrogenen aus dem Jahr 1962 (Übersicht bei Roman u. Hecker

1968) folgten bald ausführlichere Untersuchungen; so ist seit längerem bekannt, daß Östrogene durch eine Verminderung des Galleflusses (bis zu 50%: Kreek et al. 1969, Martini 1974, Kern et al. 1978, Heywood u. Wadsworth 1980, Tritapepe et al. 1980, Lauritzen o.J.) zu einer Cholestase führen können: der Icterus (und Pruritus) graviditatis wird darauf ebenso zurückgeführt wie die Schwangerschafts - Leberverfettung.

2. Methodik

Versuchstiere:

Die Versuche wurden an weiblichen NMRI - Mäusen durchgeführt. Die zwischen 2 und 3 Wochen alten Tiere wogen bei Versuchsbeginn 20 bis 25 g. Während der Versuche wurden die Mäuse zu 7 bis 15 Stück in Kunststoffkäfigen bei konstanter Raumtemperatur (25°C) gehalten und bekamen standardisiertes Preßfutter (Herilan^R) und Wasser ad libitum.

Versuchsablauf:

Aus Vergleichbarkeitsgründen wurden alle Versuche (Vor- und Hauptversuche) morgens um 8 Uhr begonnen.

Zu Beginn der Versuchsreihen wurden Vorversuche durchgeführt zur Ermittlung derjenigen Dosis Äthinylöstradiol, die bei subakuter Verabreichung zu einer mäßiggradigen Hepatotoxizität führt. Dabei dienten die von Götz (1979) mitgeteilten Daten zur Orientierung. Diese Versuche fanden im Frühjahr statt. (Zum Versuchsablauf vgl. Tab. 1!)

Bei diesen Voruntersuchungen erhielten 4 Gruppen von Mäusen entweder 10ml Olivenöl/kg Körpergewicht (Gruppe I) oder 0,5mg (Gruppe II) bzw. 1,0mg (Gruppe III) bzw. 5,0mg (Gruppe IV) Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht in Olivenöl

Gruppen	Dosis / Tag	Substanz	Applikationsart	Dauer (Tage)
I	10ml/kg	Olivenöl	s. c.	4
II	0,5mg in 10ml/kg	Äthinylöstradiol in Olivenöl	s. c.	4
III	1,0mg in 10ml/kg	"	s. c.	4
IV	5,0mg in 10ml/kg	"	s. c.	4
I	10ml/kg	Olivenöl	s. c.	7
II	0,5mg in 10ml/kg	Äthinylöstradiol in Olivenöl	s. c.	7
III	1,0mg in 10ml/kg	"	s. c.	7
IV	5,0mg in 10ml/kg	"	s. c.	7

Tab. 1: Ablauf der Vorversuche

(10ml/kg) über 4 Tage jeweils morgens s.c. injiziert. Am 5. Tag wurden die Mäuse um 8 Uhr gewogen, dekapitiert, das Blut zur Serumgewinnung aufgefangen, und anschließend die Leber herauspräpariert und deren Gewicht bestimmt. Das Serum wurde unmittelbar nach dem Abzentrifugieren bis zur chemischen Untersuchung tiefgefroren.

Außerdem wurde eine weitere Versuchsreihe mit wieder 4 Gruppen mit der gleichen Dosierung (entsprechend Gruppen I bis IV), aber 7 Tage langer Behandlung, durchgeführt und die Tiere am 8. Tag dekapitiert. Das weitere Vorgehen war identisch mit der 4-Tages - Versuchsreihe.

An Parametern wurden bestimmt:

a) Relatives Lebergewicht (Gewicht der Leber in % des

Körpergewichtes),

- b) GOT im Serum,
- c) GPT im Serum,
- d) Alkalische Phosphatase im Serum,
- e) Harnstoff im Serum und
- f) Unveresterte Fettsäuren im Serum.

Nach Abschluß und Auswertung der Vorversuche wurden die Hauptversuche mit einer Östrogendosis von 0,5mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht durchgeführt. Um den Einfluß der Jahreszeit auf den endogenen Hormonspiegel möglichst gering zu halten, fanden alle Hauptversuche im Sommer statt. (Zum Ablauf vgl. Tab. 2!)

Es wurden wiederum 4 Gruppen gebildet:

Gruppe 1 erhielt 10ml Olivenöl/kg Körpergewicht über 4 Tage tgl. morgens s.c. und am 5. Tag morgens 10ml 1,5mM Magnesiumsulfat/kg Körpergewicht i.v.

Gruppe 2 erhielt ebenfalls 10ml Olivenöl/kg Körpergewicht über 4 Tage tgl. s.c. und am 5. Tage (24 Std. nach der letzten Öl - Injektion) 50mg Tetrazyklin/kg Körpergewicht in 1,5 mM Magnesiumsulfat langsam i.v.

Gruppe 3 erhielt über 4 Tage tgl. 0,5mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht in Olivenöl s.c. und am 5. Tag 10ml 1,5 mM Magnesiumsulfat/kg Körpergewicht i.v.

Gruppe 4 schließlich erhielt 4 Tage lang tgl. 0,5mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht in Olivenöl s.c., am 5. Tag 50mg Tetrazyklin/kg Körpergewicht in 1,5 mM Magne-

siumsulfat langsam i.v.

Die gewählte Tetrazyklindosis hatte sich in vorausgegangenen Versuchsreihen als hepatotoxisch, aber nicht maximal wirksam erwiesen (Böcker et al. 1981). In einer weiteren analogen Versuchsreihe wurden Mäuse mit 100mg Tetrazyklin/kg Körpergewicht (anstatt 50mg/kg) bei ansonsten unveränderten Versuchsbedingungen behandelt.

Äthinylöstradiol bekamen wir von der Fa. Schering AG, Berlin, in Reinform, Tetrazyklin als Hydrochlorid von der Fa. Hoechst, Frankfurt/Main. Das verwendete Olivenöl entsprach den Reinheitsanforderungen des DAB 8, Magnesiumsulfat wurde (in kristalliner Form) von der Fa. Merck, Darmstadt, bezogen.

Zur Ermittlung der Zeit - Wirkungs - Beziehungen der Interaktionen Östrogen - Tetrazyklin wurden die Tiere 2, 4, 8, 24 oder 48 Std. nach der i.v.- Injektion gewogen und dekapitiert, anschließend das Blut aufgefangen, das Serum abzentrifugiert und bis zur Bestimmung der einzelnen Parameter tiefgefroren. Gleichzeitig wurden die Lebern herauspräpariert, gewogen und ebenfalls bis zur endgültigen Aufarbeitung tiefgefroren. Lebergewebe wurde im Verhältnis 1 zu 9 mit Aqua destillata versetzt, anschließend homogenisiert und das Homogenat zur Feststellung des Wassergehaltes der Leber bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Gruppen	Atrinyldetradiol in Olivenöl (s. c.)		Tetrazyklin in Magnesiumsulfat (i. v.)	
	Dosis / Tag	Applikationsdauer (Tage)	Dosis	Einwirkdauer (Stunden)
1	0mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	2
2	0mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	2
3	0,5mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	2
4	0,5mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	2
1	0mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	4
2	0mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	4
3	0,5mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	4
4	0,5mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	4
1	0mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	8
2	0mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	8
3	0,5mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	8
4	0,5mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	8
1	0mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	24
2	0mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	24
3	0,5mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	24
4	0,5mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	24
1	0mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	48
2	0mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	48
3	0,5mg in 10ml/kg	4	0mg in 10ml/kg	48
4	0,5mg in 10ml/kg	4	50 bzw. 100mg in 10ml/kg	48

Tab. 2: Überblick über die Hauptversuchsreihen

Analytik:

An Parametern des Fettstoffwechsels wurden bestimmt:

1. Triglyzeride im Serum (enzymatische Triglyzerid - Bestimmung nach enzymatischer Spaltung nach Wahlenfeld u. Bergmeyer) unter Verwendung handelsüblicher Fertigreagenzien (Fa. Boehringer, Mannheim),
2. Gesamt - Cholesterin im Serum (Cholesterinesterase / Cholesterinoxidase / Farbreaktion nach Röschlau et al., Allain et al. und Young et al.) unter Verwendung handelsüblicher Fertigreagenzien (Fa. Boehringer, Mannheim, und Fa. Boehringer, Ingelheim),
3. Freies Cholesterin im Serum (Cholesterinoxidase / Farbreaktion nach Röschlau et al., Allain et al. und Young et al.) unter Verwendung handelsüblicher Fertigreagenzien (Fa. Boehringer, Mannheim, und Fa. Boehringer, Ingelheim),
4. Verhältnis Freies / Gesamt - Cholesterin im Serum,
5. Unveresterte (= freie) Fettsäuren im Serum (photometrische Bestimmung der freien Fettsäuren als Kupfersalze) unter Verwendung handelsüblicher Fertigreagenzien (Fa. Boehringer, Ingelheim),
6. Relatives Lebergewicht (Lebergewicht in % des Körpergewichtes) und
7. Wassergehalt der Leber (mg H_2O /g Leberfrischgewicht).

Versuchsauswertung:

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe der einfachen Varianzanalyse für unverbundene Stichproben in paarweiser Anordnung. Als "signifikant" wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit (α - Fehler) unter 5% ($p < 0,05$) bezeichnet.

In den Tabellen ist für die einzelnen Parameter jeweils der Mittelwert ($\bar{x}$) sowie die Standardabweichung des Mittelwertes ($SEM = \text{standard error of mean} = \frac{s}{n}$) angegeben (Lindner 1951, Heinecke et al. 1976).

3. Ergebnisse

a) Vorversuche:

Die Vorversuche wurden durchgeführt mit dem Ziel, eine Dosis - Wirkungsbeziehung der Hepatozoxizität bzw. Stoffwechselwirkung von Äthinylöstradiol zu erhalten. Als Indikatoren für eine Leberschädigung wurden Veränderungen des relativen Lebergewichtes, der Transaminasen (GOT/GPT) (Clermont u. Chahners 1967, Adlercreutz u. Tenhunen 1970, Metreau et al. 1972, Ufer 1972, Doar 1973, Schmidt u. Schmidt 1976, Forth et al. 1977, Götz 1979, Lie 1982), der alkalischen Phosphatase (=AP) (Schaffner 1966, Song et al. 1969, Adlercreutz u. Tenhunen 1970, Metreau et al. 1972, Doar 1973, Schmidt u. Schmidt 1976, Heywood u. Wadsworth 1980, Lie 1982) sowie als Parameter für Stoffwechselwirkungen Harnstoff und unveresterte Fettsäuren (Lauritzen o.J.) gewählt.

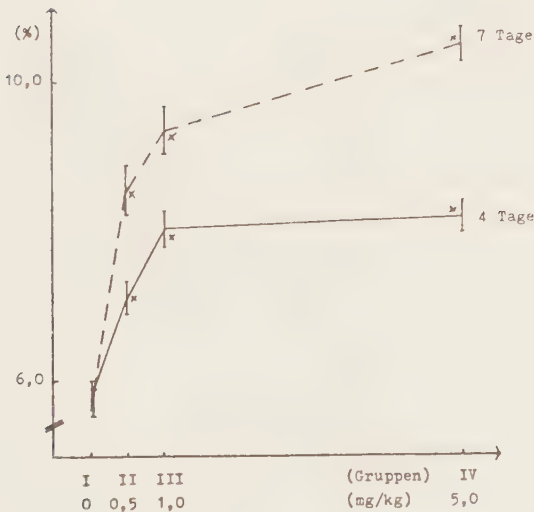
1. Relatives Lebergewicht (vgl. Tab. 3/Abb. 3):

Das Lebergewicht steigt unter 4-tägiger Östrogengabe durch Wasser- und/oder Fetteinlagerung deutlich an. Der Anstieg erreicht bei 1,0mg/kg ein Plateau, das auch mit höheren Östrogendosen (5,0mg/kg) nicht viel überschritten wird. Erst bei seiner 7-tägigen Applikation des Hormons setzt sich der Anstieg mit höheren Dosen signifikant fort.

Tage	4			7		
Gruppen	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n
	signifikant	zu		signifikant	zu	
I (1)	5,80	0,19	10	5,70	0,15	10
	- II	III	IV	- II	III	IV
II (0,5mg/kg)	7,12	0,22	15	8,54	0,35	15
	I -	III	IV	I -	III	IV
III (1,0mg/kg)	8,05	0,24	15	9,36	0,32	15
	I II	-	-	I II	-	IV
IV (5,0mg/kg)	8,19	0,22	15	10,51	0,22	15
	I II	-	-	I II	III	-

Tab. 3/Abb. 3:

Dosis - Wirkungsbeziehung von Äthinyl-östradiol auf das relative Lebergewicht (Lebergewicht in % des Körpergewichtes)



Tage	4			7		
Gruppen	$\bar{x}$ signifikant	SEM zu	n	$\bar{x}$ signifikant	SEM zu	n
I (01)	103,7 - II	6,2 III	10 IV	84,9 - -	7,6 - -	9
II (0,5mg/kg)	140,7 I -	12,5 III	14 IV	97,2 - -	6,4 - IV	14
III (1,0mg/kg)	240,1 I II	20,7 - -	11	100,9 - -	10,5 - IV	14
IV (5,0mg/kg)	206,7 I II	22,3 - -	14	76,9 - II	5,9 III -	14

Tab. 4: Dosis -
Wirkungsbezie-
hung von Äthi-
nylöstrodiol
auf die GOT -
Aktivität im
Serum (U/l)

Tage	4			7		
Gruppen	$\bar{x}$ signifikant	SEM zu	n	$\bar{x}$ signifikant	SEM zu	n
I (01)	30,0 - II	3,8 III	7 IV	74,7 - -	11,7 - IV	10
II (0,5mg/kg)	144,3 I -	20,6 III	12	53,1 - -	8,1 - -	13
III (1,0mg/kg)	204,1 I II	22,0 - -	10	68,1 - -	8,8 - IV	13
IV (5,0mg/kg)	179,3 I -	21,0 - -	11	43,2 I -	4,0 III -	13

Tab. 5: Dosis -
Wirkungsbezie-
hung von Äthi-
nylöstrodiol
auf die GPT -
Aktivität im
Serum (U/l)

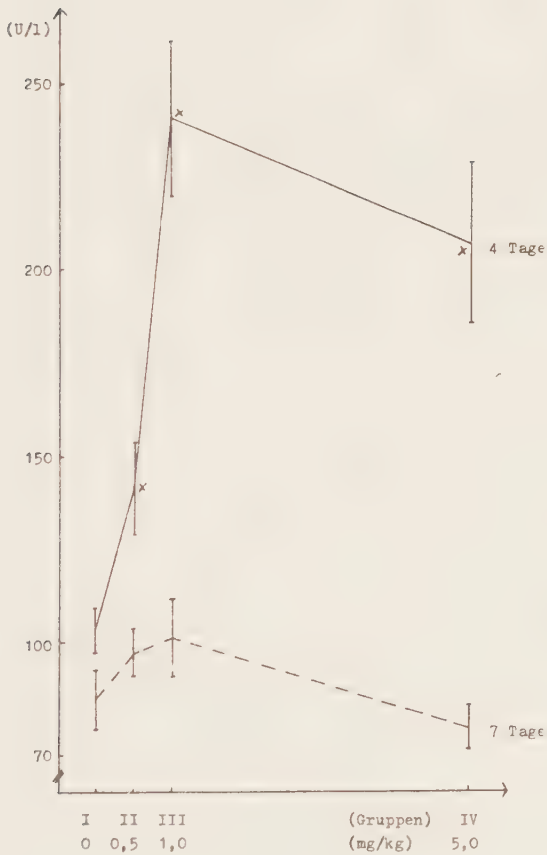


Abb. 4: Dosis - Wirkungsbeziehung von Äthinylöstradiol auf die GOT - Aktivität im Serum (U/l)

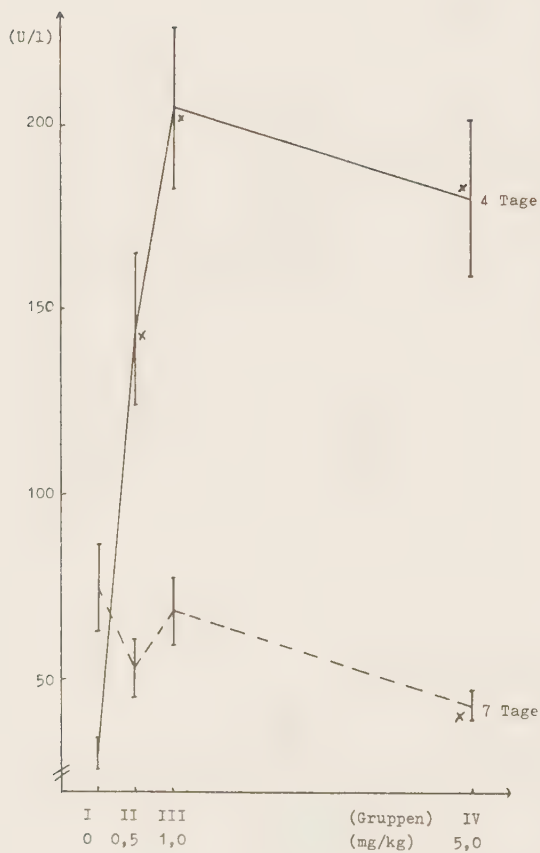


Abb. 5: Dosis - Wirkungsbeziehung von Äthinylöstradiol auf die GPT - Aktivität im Serum

2. Transaminasen (vgl. Tab. 4 und 5/Abb. 4 und 5):

Wegen ähnlichen Verhaltens können GOT (= Glutamat - Oxalazetat - Transaminase = Aspartat - Amino - Transferase; E.C.- Nr. 2.6.1.1) und GPT (= Glutamat - Pyruvat - Transaminase = Alanin - Amino - Transferase; E.C.- Nr. 2.6.1.2) gemeinsam betrachtet werden. Diese Enzyme, die hauptsächlich im Zytosol lokalisiert sind, zeigen, wenn sie im Serum vermehrt erscheinen, eine Störung der Membranpermeabilität der Leberparenchymzellen an (vgl. Roman u. Hecker 1968).

Nach Behandlung mit Äthinylöstradiol zeigt sich ein signifikanter Anstieg der Transaminasen, der bei 1,0mg Äthinylöstradiol/kg über 4 Tage ein Maximum hat. Bei einer weiteren Steigerung der Östrogendosis sinken die Transaminasen wieder etwas ab. Die über 7 Tage geführten Versuche lassen in den niedrigen Dosierungen keinen signifikanten Anstieg, zwischen Gruppe III und IV sogar einen signifikanten Abfall erkennen.

3. Alkalische Phosphatase (vgl. Tab. 6/Abb. 6):

Die alkalische Phosphatase (= AP; E.C.- Nr. 3.1.3.1) steigt als Zeichen eines durch Östrogen verminderten Galleflusses (Kreek et al. 1969) bei der Behandlung über 4 Tage mit steigender Dosis deutlich an. Die Erhöhung ist jedesmal signifikant gegenüber der nächstniederen Dosis. 7 Tage Östrogenbehandlung bewirken nur in der Gruppe IV (5,0mg/kg) einen signifikanten Anstieg.

Tage	4			7		
Gruppen	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n
	signifikant zu			signifikant zu		
I (Öl)	223,8	9,5	8	222,3	41,0	7
	- II	III	IV	- - -	IV	
II (0,5mg/kg)	359,1	18,4	14	205,7	18,9	13
	1 -	III	IV	- - -	IV	
III (1,0mg/kg)	487,9	43,3	11	237,8	22,4	14
	1 II -	IV		- - -	IV	
IV (5,0mg/kg)	672,4	50,6	12	295,2	14,7	12
	1 II III -			I II III -		

Tab. 6: Dosis -

Wirkungsbeziehung von Äthi-
nylöstrodiol
auf die Aktivi-
tät der alkali-
schen Phospha-
tase im Serum
(U/l)

4. Harnstoff (vgl. Tab. 7/Abb. 7):

Dieser Parameter - stellvertretend für den Eiweiß-
stoffwechsel - ändert sich unter Östrogeneinfluß nur we-
nig. Der geringe Rückgang des Serumharnstoffs wird als
Zeichen für einen Proteinanabolismus (Harper et al. 1975,
Forth et al. 1977, Lauritzen o.J.) und eine damit vermin-
derte Stickstoff - Ausscheidung angesehen.

5. Unveresterte Fettsäuren (vgl. Tab. 8/Abb. 8):

Der Serumgehalt an unveresterten (= freien) Fettsäu-
ren, die als Parameter für einen Einfluß auf den Fett-
stoffwechsel stehen, nimmt unter der 4-tägigen Östrogen-

gabe bei den höheren Dosen signifikant ab.

Bei den einzelnen Ergebnissen (außer Harnstoff und unveresterten Fettsäuren) der Vorversuche trat bereits bei einer Östrogendosis von 0,5mg/kg eine gegenüber Vehikel (Olivenöl) signifikante, aber noch nicht maximale Wirkung auf. Deshalb wurde als geeignete Dosis für die Hauptversuche 0,5mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht/10ml Olivenöl s.c. über 4 Tage angesehen.

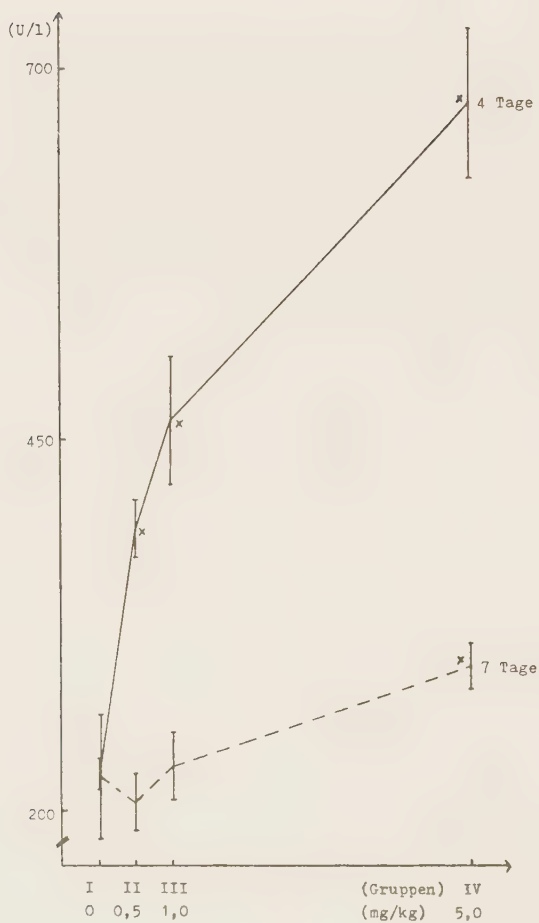
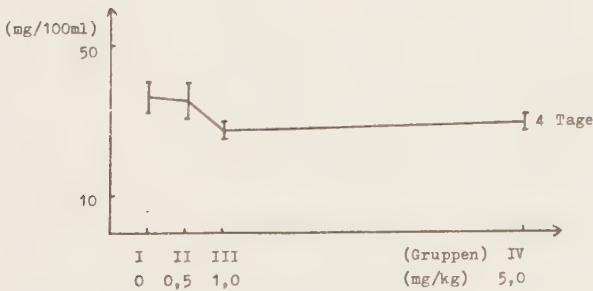


Abb. 6: Dosis - Wirkungsbeziehung von Äthinylöstradiol
auf die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum
(U/l)

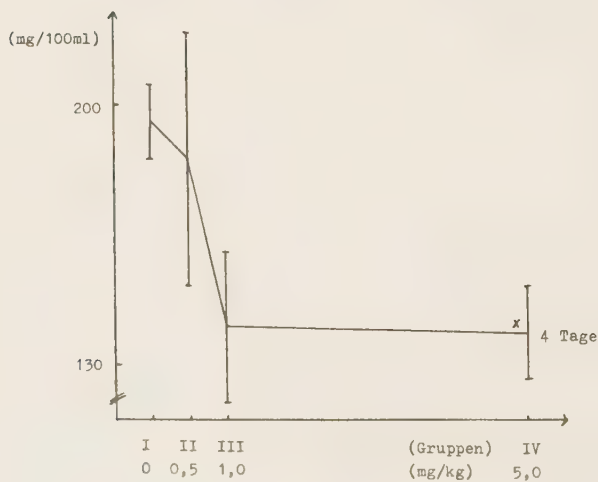
Tage	4		
Gruppen	$\bar{x}$	SEM	n
	signifikant zu		
I (01)	36,1	4,0	5
	-	-	-
II (0,5mg/kg)	35,3	4,4	5
	-	-	-
III (1,0mg/kg)	27,2	2,0	5
	-	-	-
IV (5,0mg/kg)	29,3	1,9	5
	-	-	-

Tab. 7/Abb. 7: Dosis - Wirkungsbeziehung von Äthinyl-
östradiol auf den Harnstoff - Spiegel im Serum (mg/
100ml)



Tage	4		
Gruppen	$\bar{x}$ signifikant	SEM zu	n
I (Öl)	194,5 - - - IV	10,3	5
II (0,5mg/kg)	186,7 - - - -	33,8	3
III (1,0mg/kg)	140,0 - - - -	19,9	3
IV (5,0mg/kg)	137,8 I - - -	12,4	3

Tab. 8/Abb. 8: Dosis - Wirkungsbeziehung von Äthionylöstradiol auf den Serumspegel der un-
esterten Fettsäuren (mg/
100ml)



b) Hauptversuche:

Aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit werden die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen mit 50 und 100mg Tetrazyklin/kg Körpergewicht parallel besprochen.

Die Tabellen und Abbildungen zu den Hauptversuchen befinden sich in Abschnitt 4 (auf Seite 32ff.).

1. Serum - Triglyzeride (vgl. Tab. 9a und b/Abb. 9a und b):

Unter der niedrigen Tetrazyklindosis sind die Serum - Triglyzeridwerte nach einer anfänglichen geringen Abnahme 4 Std. nach der Tetrazyklinapplikation signifikant erhöht und erreichen nach 8 Std. wieder die Kontrollwerte. Unter der höheren Dosis kommt es zu einem stärker ausgeprägten Abfall des Triglyzeridspiegels im Serum in den ersten 4 Stunden. Nach 48 Std. ist der Ausgangswert wieder erreicht.

Unter dem Einfluß von Äthinylöstradiol ist der Triglyzeridspiegel im Serum vorübergehend erhöht. 48 Std. nach der letzten Östrogengabe liegt er wieder im Normbereich.

Die kombinierte Gabe von Östrogen und Tetrazyklin führt zu einem deutlichen Abfall des Serum - Triglyzeridspiegels, der bei der höheren Tetrazyklindosis (100mg/kg) gleich nach der Applikation (2. - 4. Std.) sehr stark ausgeprägt ist und bei der niedrigeren Dosis (50mg Tetrazyklin/kg) verzögert eintritt.

2. Gesamt - Cholesterin im Serum (vgl. Tab. 10a und b/
Abb. 10a und b):

Tetrazyklin erniedrigt die Konzentration von Cholesterin im Serum. Besonders deutlich sieht man dies 2 - 4 Std. nach der Injektion. Der Abfall ist bei der höheren Tetrazyklindosis etwas stärker ausgeprägt; in beiden Fällen ist nach 24 bzw. 48 Std. der Ausgangswert wieder erreicht.

Äthinylöstradiol erhöht bei unseren Versuchstieren das Gesamt - Cholesterin im Serum, bes. zu Versuchsbeginn. Im weiteren Versuchsverlauf normalisiert sich der Cholesterinspiegel, so daß 48 bzw. 72 Std. nach der letzten Injektion von Äthinylöstradiol der Wert der Kontrollgruppe wieder erreicht ist.

Bei kombinierter Verabreichung von Tetrazyklin und Östrogen läßt sich keine einheitliche Tendenz erkennen. Bei der niedrigen Tetrazyklindosis folgt auf eine anfängliche Zunahme (nach 2 Std.) nach 24 Std. eine deutliche Abnahme sowie eine Annäherung an den Ausgangswert nach 48 Std. Die Kombination von Äthinylöstradiol mit der höheren Dosis an Tetrazyklin führt zu einer deutlichen Senkung des Cholesterinspiegels 4 Std. nach der Tetrazyklingabe und einem Anstieg über die Kontrollwerte nach 48 Std.

3. Freies Cholesterin und Verhältnis Freies zu Gesamt - Cholesterin im Serum (vgl. Tab. 11 und 12/Abb. 11 und 12):

Unter dem Einfluß von Tetrazyklin allein schwankt der Spiegel des freien Cholesterins nicht signifikant um den Kontrollwert.

Äthinylöstradiol verursacht eine signifikante Erhöhung des freien Cholesterins im Serum, die 26 - 28 Std. nach der letzten Injektion am ausgeprägtesten ist, dann abfällt und 72 Std. nach der Injektion den Kontrollwert wieder erreicht.

Bei der Behandlung mit Äthinylöstradiol und Tetrazyklin dominiert 2 Std. nach der Tetrazyklininjektion die Östrogenwirkung; später verhält sich der Gehalt des Serums an freiem Cholesterin ähnlich wie nach Tetrazyklin allein.

Betrachtet man das Verhältnis von freiem zu Gesamt - Cholesterin, so erkennt man, daß Tetrazyklin den Anteil des freien Cholesterins mit einem Maximum 2 Std. nach der Applikation erhöht.

Äthinylöstradiol steigert ebenfalls den Anteil des freien Cholesterins am Gesamt - Cholesterin sehr deutlich mit einem Gipfel 28 Std. nach der letzten Injektion.

Beide Pharmaka addieren sich nur anfangs (2 Std. nach der Tetrazyklingabe) in ihrer Wirkung. Nach 48 Std. entspricht das Verhältnis von freiem zu Gesamt - Cholesterin

dem Ausgangswert.

4. Unveresterte Fettsäuren im Serum (vgl. Tab. 13/Abb. 13):

Tetrazyklin allein führt zunächst zu einer signifikanten Abnahme der unveresterten (= freien) Fettsäuren nach 2 Std., dann zu einem signifikanten Anstieg 4 und 8 Std. post injectionem und nach 24 Std. wiederum zu einem signifikantem Abfall. Nach 48 Std. entspricht der Spiegel an Fettsäuren im Serum etwa dem Kontrollwert.

Unter dem Einfluß von Äthinylöstradiol schwankt der Gehalt des Serums an unveresterten Fettsäuren um den Kontrollwert.

Die Kombination von Äthinylöstradiol und Tetrazyklin senkt den Spiegel der unveresterten Fettsäuren unter den Ausgangswert (signifikanter Abfall aber nur nach 24 Std.).

5. Relatives Lebergewicht und Wassergehalt der Leber (vgl. Tab. 14a und b/Abb. 14a und b sowie Tab. 15a und b/Abb. 15a und b):

Das relative Lebergewicht (Lebergewicht in % des Körpergewichtes) ändert sich nach der Applikation von 50mg Tetrazyklin/kg nicht stark, nach Applikation von 100mg/kg dagegen nimmt es 24 Std. nach der Injektion deutlicher zu.

Einen hochsignifikanten Anstieg des relativen Leberge-

wichtiges bewirkt Äthinylöstradiol: das Lebergewicht steigt um 25 - 45% gegenüber dem Kontrollwert.

Die Kombination der beiden Substanzen führt zu annähernd gleichen Werten wie die Behandlung mit Östrogen allein.

Betrachtet man den Wasseranteil der Leber, so fällt auf, daß unter dem Einfluß von Äthinylöstradiol der Wassergehalt der Leber relativ zunimmt, d.h. die Gewichtszunahme der Leber ist hauptsächlich durch Wassereinlagerung bedingt.

Die alleinige Verabreichung von Tetrazyklin führt bei beiden Dosen nicht zu signifikanten Veränderungen des Wassergehaltes der Leber.

Äthinylöstradiol und Tetrazyklin beeinflussen zusammen den Wasseranteil in ähnlicher Weise wie Östrogen allein. Besonders unter der höheren Dosis von Tetrazyklin ist eine signifikante Zunahme des Wassergehaltes der Leber festzustellen.

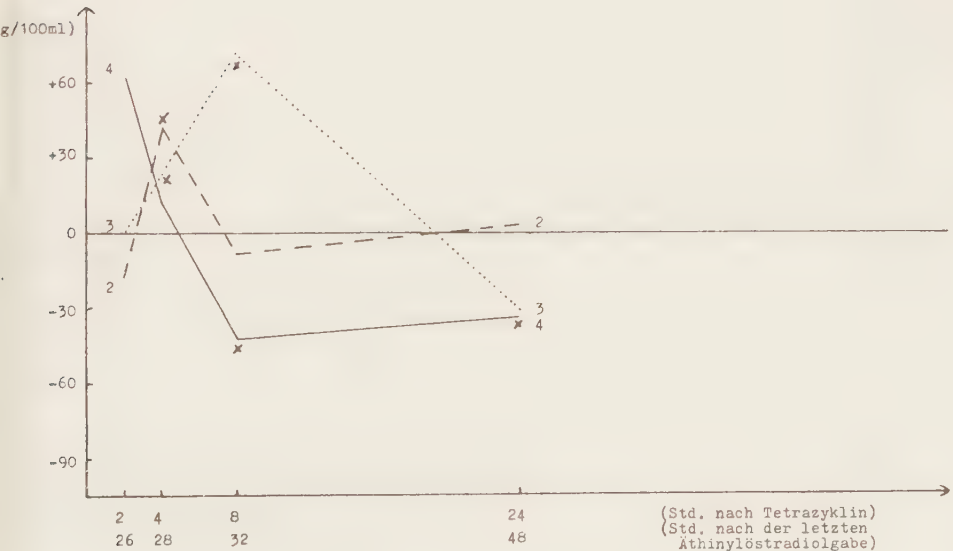
4. Tabellen und Abbildungen zu den Hauptversuchen

In den Tabellen sind jeweils zur Referenzgruppe (= Kontrollgruppe = Ausgangswert: Olivenöl und Magnesiumsulfat) die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Abweichungen der Gruppe 2 (Olivenöl und Tetrazyklin), 3 (Äthinylöstradiol und Magnesiumsulfat) und 4 (Äthinylöstradiol und Tetrazyklin) in den Einheiten des betreffenden Parameters angegeben.

In den Abbildungen sind auf der Ordinate die Änderungen der jeweiligen Parameter, bezogen auf die Kontrollgruppe (Öl + MgSO_4), dargestellt. Die Sternchen (x) kennzeichnen eine signifikante Änderung ($p < 0,05$) gegenüber der Referenzgruppe.

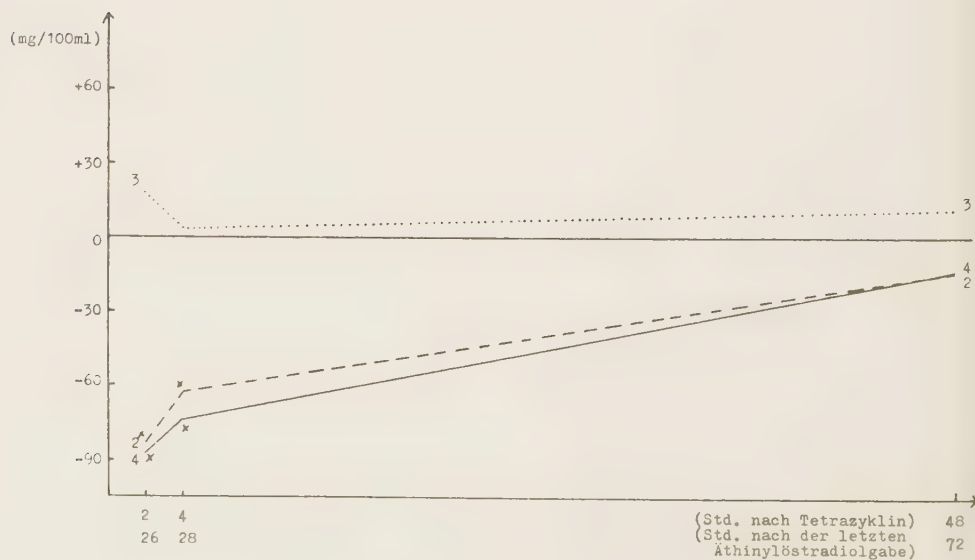
Std. nach Tetrazyklin	2	4	8	24
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26	28	32	48
Gruppen	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	248 ± 17 mg/100ml			
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	-18 15 9 - - - 4	+42 14 9 1 - - -	-8 11 8 - - 3 4	+3 14 8 - - 3 4
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+1 30 7 - - - -	+24 9 9 1 - - -	+72 16 7 1 2 - 4	-31 7 8 - 2 - -
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	+62 37 8 - 2 - -	+13 9 8 - - - -	-42 8 8 1 2 3 -	-34 8 9 1 2 - -

Tab. 9a/Abb. 9a: Änderung des Gehalts an Triglyzeriden im Serum unter Äthinylöstradiol und 50mg/kg Tetrazyklin



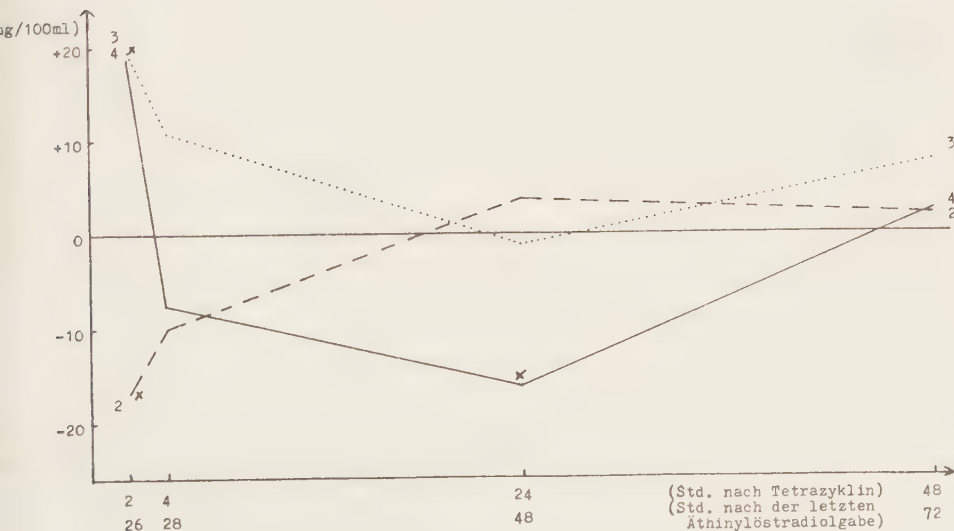
Std. nach Tetrazyklin	2	4	48
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26	28	72
Gruppen	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	238 ± 16 mg/100ml		
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	-83 15 10 1 - - -	-63 9 10 1 - - -	-13 31 10 - - - -
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+18 14 10 - - - -	+4 16 10 - - - -	+11 23 10 - - - -
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	-88 20 10 1 - - -	-74 6 10 1 - - -	-12 16 10 - - - -

Tab. 9b/Abb. 9b: Änderung des Gehalts an Triglyzeriden im Serum
unter Äthinylöstradiol und 100mg/kg Tetrazyklin



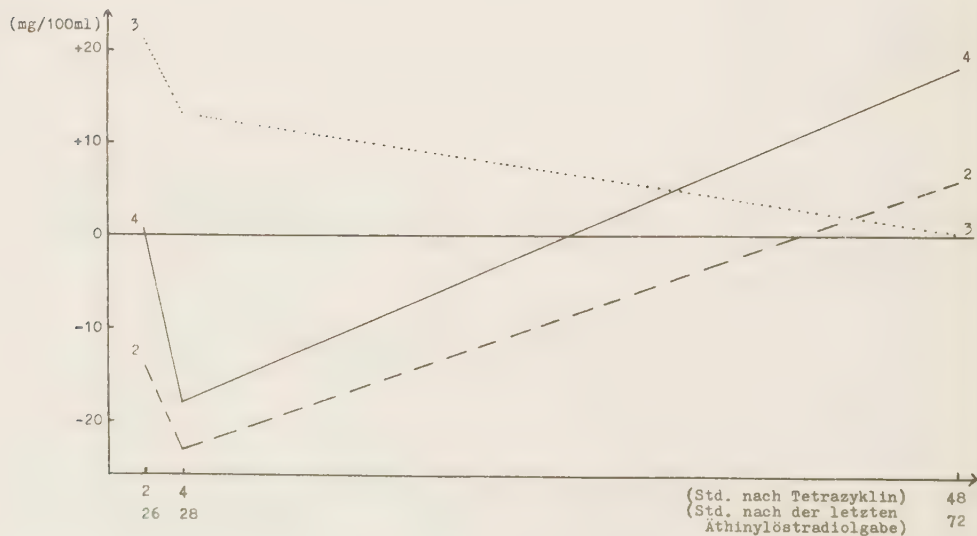
Std. nach Tetrazyklin	2	4	24	48
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26	28	48	72
Gruppen	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	99,6 ± 7,4 mg/100ml			
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	-16,7 3,4 10 1 - 3 4	-10,0 9,9 9 - - - -	+3,8 6,7 10 - - - 4	+2,1 5,3 9 - - - -
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+19,6 5,9 10 1 2 - -	+10,8 11,5 10 - - - -	-1,3 5,0 10 - - - 4	+7,8 3,4 10 - - - -
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	+18,9 7,8 10 - 2 - -	-7,6 9,1 10 - - - -	-16,3 4,1 10 1 2 3 -	+2,5 3,7 10 - - - -

Tab. 10a/Abb. 10a: Änderung des Gehalts an Gesamt - Cholesterin
im Serum unter Äthinylöstradiol und 50mg/kg Tetrazyklin



Std. nach Tetrazyklin	2	4	48
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26	28	72
Gruppen	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	88,6 ± 7,1 mg/100ml		
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	-14,2 6,5 10 -	-23,3 6,7 10 -	+5,8 9,5 10 -
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+21,3 7,1 10 -	+13,1 7,9 10 -	+0,2 10,1 10 -
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	+0,8 5,7 10 -	-18,1 5,6 10 -	+17,9 13,2 10 -

Tab. 10b/Abb. 10b: Änderung des Gehalts an Gesamt - Cholesterin
im Serum unter Äthinylöstradiol und 100mg/kg Tetrazyklin



Std. nach Tetrazyklin	2			4			48		
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26			28			72		
Gruppen	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n
	signifikant zu			signifikant zu			signifikant zu		
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	18,2 ± 1,7 mg/100ml								
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	+2,9	1,4	10	-2,9	1,9	10	+2,6	1,5	10
	-	-	3	4	-	-	3	-	-
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+20,3	1,7	10	+23,0	0,5	10	+0,5	1,0	10
	1	2	-	-	1	2	-	4	-
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	+19,5	2,9	10	-0,4	1,8	10	+4,4	2,4	10
	1	2	-	-	-	3	-	-	-

Tab. 11/Abb. 11: Änderung des Gehalts an freiem Cholesterin
im Serum unter Äthinylöstradiol und 100mg/kg Tetrazyklin



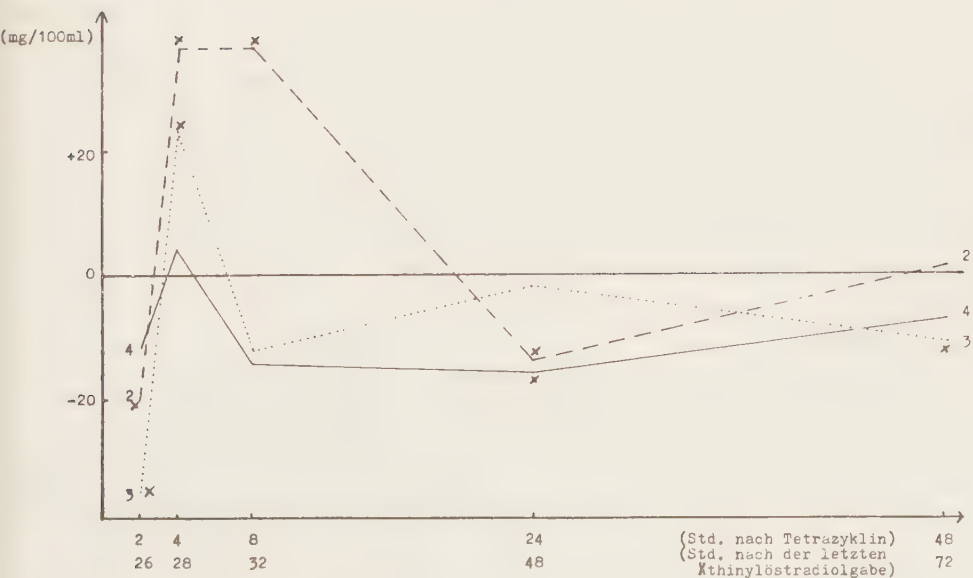
Std. nach Tetrazyklin	2		4		48
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26		28		72
Gruppen	$\bar{x}$	n	$\bar{x}$	n	$\bar{x}$ n
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	20,4 % des Gesamt - Cholesterins				
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	+7,9	10	+4,0	10	+1,7 10
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+15,4	10	+18,3	10	+0,6 10
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	+22,9	10	+5,3	10	+1,2 10

Tab. 12/Abb. 12: Änderung des Verhältnisses freies zu Gesamt - Cholesterin im Serum (Freies in % des Gesamt - Cholesterins) unter Äthinylöstradiol und 100mg/kg Tetrazyklin



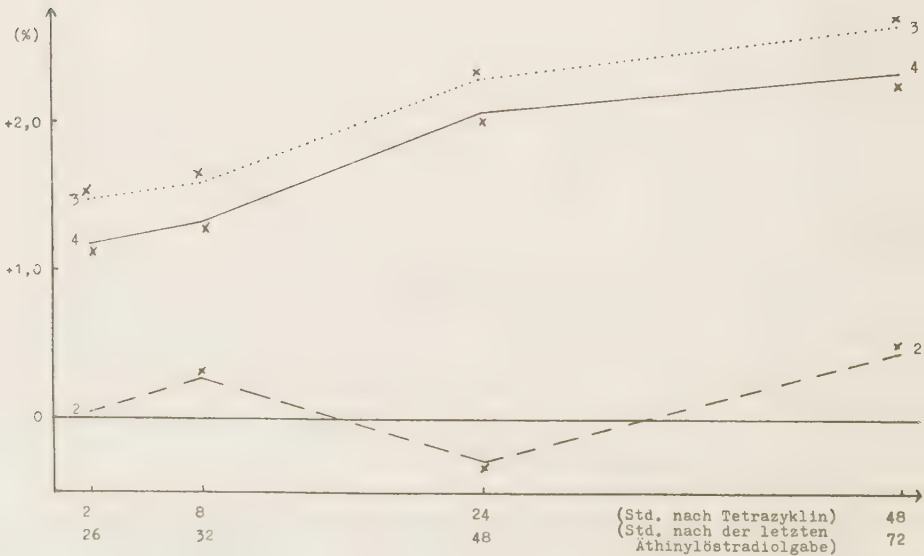
Std. nach Tetrazyklin	2			4			8			24			48			
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26			28			32			48			72			
Gruppen	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n	
	signifikant zu			signifikant zu			signifikant zu			signifikant zu			signifikant zu			
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	53,2 ± 7,0 mg/100ml															
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	-19,4	2,9	9	+36,1	2,8	10	+36,2	8,1	9	-13,8	2,8	8	+1,4	3,5	8	
	1	-	3	-	1	-	3	4	1	-	-	-	-	-	3	-
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	-34,6	3,1	9	+22,7	3,9	9	-12,1	13,9	8	-1,5	6,4	7	-10,6	3,3	9	
	1	2	-	4	1	2	-	-	-	2	-	-	-	-	2	-
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	-11,2	12,2	7	+3,9	11,5	9	-14,1	10,8	8	-15,6	2,7	10	-7,2	3,7	9	
	-	-	3	-	-	2	-	-	-	2	-	-	1	-	3	-

Tab. 13/Abb. 13: Änderung des Gehalts an unveresterten Fettsäuren
im Serum unter Äthinylöstradiol und 50mg/kg Tetrazyklin



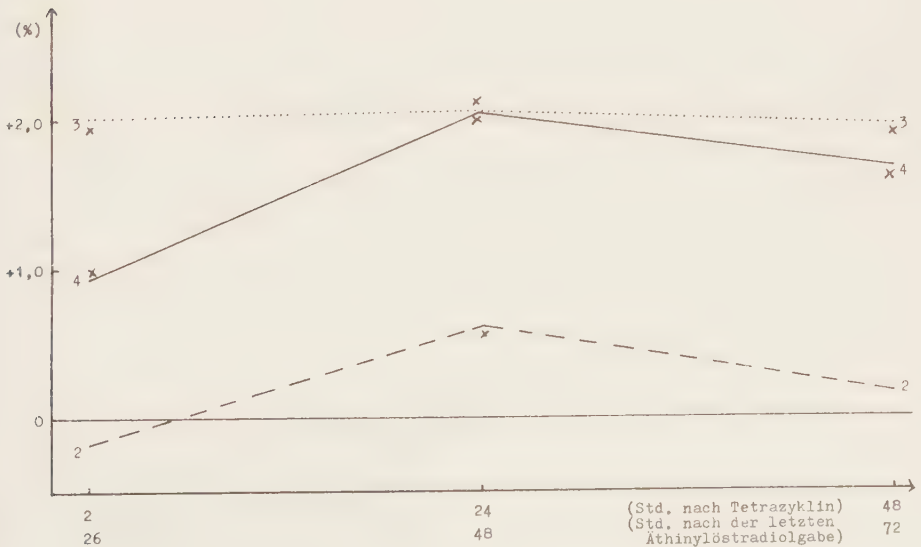
Std. nach Tetrazyklin	2	8	24	48
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26	32	48	72
Gruppen	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu	$\bar{x}$ SEM n signifikant zu
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	5,84 ± 0,11 % des Körpergewichtes			
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	+0,04 0,09 15 - - 3 4	+0,28 0,07 15 1 - 3 4	-0,28 0,09 14 1 - 3 4	+0,45 0,11 10 1 - 3 4
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+1,48 0,19 15 1 2 - -	+1,59 0,13 14 1 2 - -	+2,29 0,22 12 1 2 - -	+2,64 0,25 15 1 2 - -
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	+1,18 0,18 14 1 2 - -	+1,32 0,13 15 1 2 - -	+2,06 0,21 16 1 2 - -	+2,31 0,22 16 1 2 - -

Tab. 14a/Abb. 14a: Änderung des relativen Lebergewichtes unter Äthinylöstradiol und 50mg/kg Tetrazyklin



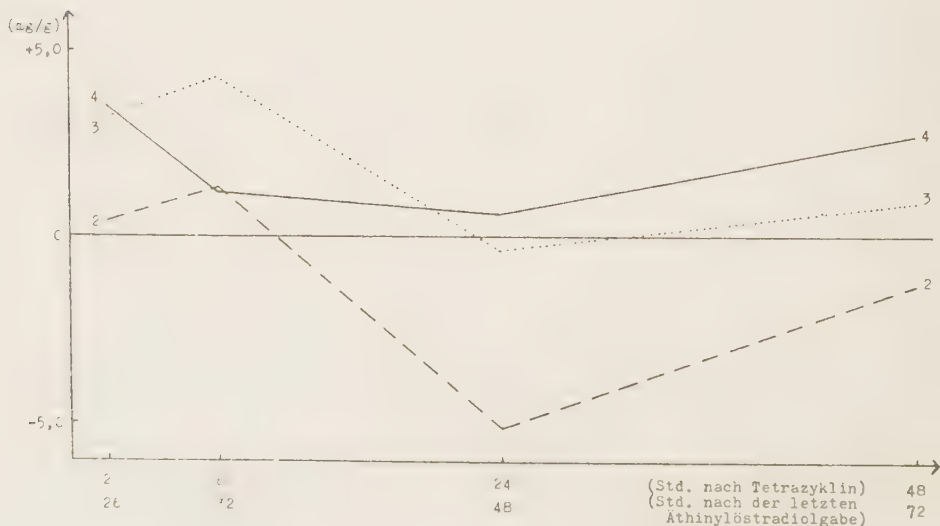
Std. nach Tetrazyklin	2	24	48
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26	48	72
	$\bar{x}$ SEM n	$\bar{x}$ SEM n	$\bar{x}$ SEM n
Gruppen	signifikant zu	signifikant zu	signifikant zu
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	5,61 ± 0,11 % des Körpergewichtes		
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	-0,18 0,11 7 - - - 4	+0,61 0,12 12 1 - - 4	+0,16 0,09 12 - - - 4
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+2,01 0,34 10 1 - - -	+2,06 0,25 12 1 - - -	+1,98 0,20 12 1 - - -
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	+0,93 0,26 5 1 2 - -	+2,05 0,16 11 1 2 - -	+1,69 0,14 11 1 2 - -

Tab. 14b/Abb. 14b: Änderung des relativen Lebergewichtes unter Äthinylöstradiol und 100mg/kg Tetrazyklin



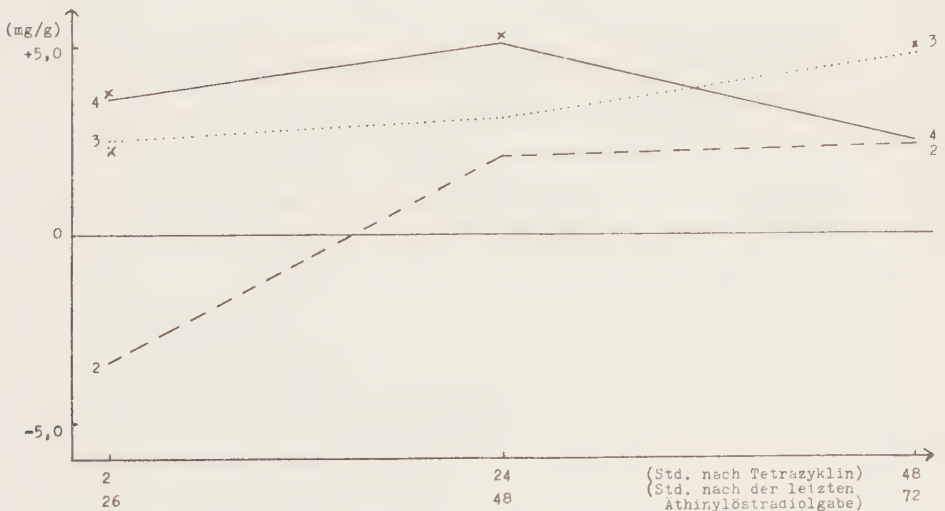
Std. nach Tetrazyklin	2			8			24			48		
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26			32			48			72		
Gruppen	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n
	signifikant zu			signifikant zu			signifikant zu			signifikant zu		
1 (Referenzgruppe = Cl + MgSO ₄)	68,1 ± 0,9 mg/g Frischgewicht											
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	+0,4	0,9	10	+1,3	0,3	10	-5,1	0,4	10	-1,3	0,2	10
	-			-			-			-		
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+3,2	0,7	10	+4,3	0,3	10	-0,4	0,2	10	+0,9	1,2	10
	-			-			-			-		
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	+3,5	1,3	10	+1,2	0,8	10	+0,6	0,4	10	+2,7	0,3	10
	-			-			-			-		

Tab. 15a/Abb. 15a: Änderung des Wassergehaltes der Leber unter Äthinylöstradiol und 50mg/kg Tetrazyklin



Std. nach Tetrazyklin	2			24			48		
Std. nach der letzten Äthinylöstradiolgabe	26			48			72		
Gruppen	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n	$\bar{x}$	SEM	n
	signifikant zu			signifikant zu			signifikant zu		
1 (Referenzgruppe = Öl + MgSO ₄)	69,0 ± 0,5 mg/g Frischgewicht								
2 (Olivenöl + Tetrazyklin)	-3,4	1,4	10	+2,1	0,6	10	+2,4	0,5	10
	-	-	3	4	-	-	-	-	3
3 (Äthinylöstradiol + Magnesiumsulfat)	+2,5	0,5	10	+3,1	0,5	10	+4,8	0,5	10
	1	2	-	-	-	4	1	2	-
4 (Äthinylöstradiol + Tetrazyklin)	+3,6	0,3	10	+5,1	0,6	10	+2,5	0,3	10
	1	2	-	-	1	2	3	-	-

Tab. 15b/Abb. 15b: Änderung des Wassergehaltes der Leber unter Äthinylöstradiol und 100mg/kg Tetrazyklin



5. Diskussion

a) Wirkung von Äthinylöstradiol allein:

Äthinylöstradiol bewirkte in der vorliegenden Untersuchung nur eine vorübergehende Zunahme der Serum - Triglyzeride 32 Std. nach der letzten Injektion. Auch andere Autoren (Song et al. 1969, Kekki u. Nikkilä 1971, Rössner et al. 1971, Doar 1973, Applebaum et al. 1977) fanden einen Anstieg der Triglyzeride im Serum unter Östrogeneinfluß (Extremfall 200% Anstieg: Rössner et al. 1971).

Diese Zunahme könnte mit der von Lauritzen (o.J.) erwähnten Steigerung der Apolipoprotein - Synthese in der Leber und der Zunahme der VLDL (= very low density lipoprotein) im Serum in Zusammenhang stehen. Beides führt zu einer vermehrten Sekretion von Triglyzeriden aus der Leber in das Blut. In die gleiche Richtung deutet auch eine unter unseren Versuchsbedingungen beobachtete Abnahme der Leber - Triglyzeride (unveröffentlichte Befunde).

Als Ursache für den Anstieg des Triglyzeridspiegels im Serum werden auch eine verstärkte Synthese von Triglyzeriden in der Leber (Kekki u. Nikkilä 1971, Doar 1973, Lauritzen o.J.) bzw. - durch die Verringerung der Aktivität der hepatischen Triglyzerid - Lipase (Applebaum et al. 1977) - ein verminderter Abbau von Triglyzeriden in der Leber angegeben (Lauritzen o.J.).

Die Angaben über den Einfluß von Äthinylöstradiol auf das Gesamt - Cholesterin im Serum differieren in der Literatur: Einige Autoren berichten über einen Abfall des Cholesterins (Metreau et al. 1972, Ufer 1972, Doar 1973, Ganong u. Auerswald 1974, Harper et al. 1975) durch vermehrte Ausscheidung und Ablagerung im Gewebe (Lauritzen o.J.), andere Autoren geben einen Anstieg des Cholesterins im Serum um 10 - 20% an (Schaffer 1966, Rössner et al. 1971, Lie 1982), verursacht durch eine Steigerung der Cholesterinsynthese in der Leber (Song et al. 1969). Ebensolche Unterschiede ergeben sich beim HDL (= high density lipoprotein) - Cholesterin, das nach Rössner et al. (1971) sinkt, nach Doar (1973) hingegen steigt; das VLDL - Cholesterin allerdings nahm bei beiden Untersuchern zu.

In unseren Versuchen fand sich ein Anstieg des Gesamt - Cholesterins und des freien Cholesterins im Serum. In der Leber stieg der Cholesteringehalt ebenfalls an (unveröffentlichte Befunde unseres Institutes; vgl. auch Lauritzen o.J.). Die relative Zunahme des freien Cholesterins spricht für eine Störung der Cholesterinveresterung.

Die Wirkung von Äthinylöstradiol auf die unveresterten Fettsäuren war nicht eindeutig. Es kam zwar zu signifikanten Abweichungen vom Kontrollwert, eine klare Tendenz war jedoch nicht erkennbar.

Dies deckt sich mit den Angaben in der Literatur, in denen über keine Änderung (Doar 1973, Lauritzen o.J.) oder höchstens eine leichte Abnahme (Rössner et al. 1971) der freien Fettsäuren im Serum berichtet wird. Die Aktivität der hepatischen Fettsäure - Synthetase steigt zwar an (Aprahamian et al. 1979), aber gleichzeitig wird durch die vermehrte Triglyzeridsynthese in der Leber mehr verbraucht, so daß im Serum nur geringe Änderungen feststellbar sind.

Bereits 1939 beschrieben Zuckerman et al. reversible Wassereinlagerungen ins Gewebe unter Östrogeneinfluß. Als Ursache dafür wird eine renale Salzretention angenommen (Ganong u. Auerswald 1974, Dorfman 1980, Lauritzen o.J.). Außerdem erhöht Östrogen die Kapillarpermeabilität für Wasser und Elektrolyte. Natrium wird überwiegend extrazellulär angereichert, was eine Vermehrung des extrazellulären Volumens nach sich zieht. Schließlich werden durch Östrogen die Bindegewebs - Polysaccharide depolymerisiert; dies führt wiederum zu einer gesteigerten Wasseraufnahme der interstitiellen Grundsubstanz (Lauritzen o.J.).

In unseren Versuchen bestätigt sich die ausgeprägte Wassereinlagerung durch die Zunahme des relativen Lebergewichtes sowie den signifikanten Anstieg des Wassergehaltes der Leber (vgl. auch Götz 1979).

b) Wirkung von Tetrazyklin allein:

Von zahlreichen Autoren wurde eine vermehrte Einlagerung von Triglyzeriden in die Leber unter Tetrazyklin beschrieben (Seto u. Lepper 1954, Schultz et al. 1963, Kunnelis et al. 1965, Breen et al. 1972, Böcker et al. 1981), die auf eine herabgesetzte Synthese von Apolipoprotein und damit auch VLDL, d.h. eine verminderte Ausschleusung von Triglyzeriden aus der Leber zurückgeführt wird (Hansen et al. 1968, Breen et al. 1972, Martini 1974, Lewicki et al. 1980).

Dies spiegelt sich auch in unseren Versuchen in einer Abnahme der Serum - Triglyzeride, die zumindest unter der höheren Tetrazyklindosis (100mg/kg) meßbar wird, wider.

In die gleiche Richtung deutet auch die Abnahme des Gesamt - Cholesterins im Serum nach 100mg/kg Tetrazyklin.

Die Schwankungen im Gehalt des Serums an unveresterten Fettsäuren in unseren Versuchen sind schwer zu deuten. Sie können auf Veränderungen der Lipolyse im Fettgewebe oder auf einer Störung der Fettsäureaufnahme in die Leber beruhen. Breen et al. (1972) berichten von einer leichten Abnahme des Serumspiegels an freien Fettsäuren, obwohl keine Änderung der Aufnahme von unveresterten Fettsäuren in die Leber zu finden war.

Tetrazyklin hatte in der niedrigen Dosis (50mg/kg) keinen signifikanten Einfluß auf das relative Lebergewicht und den Wassergehalt der Leber. In der höheren Dosis (100mg/kg) führte es nach 24 Std. zu einer Zunahme des Lebergewichtes. Sie steht möglicherweise mit der von Böcker et al. (1981) beschriebenen Zunahme des Triglyzeridgehalts der Leber in Zusammenhang. Der Wassergehalt der Leber änderte sich auch unter dieser Tetrazyklindosis nicht signifikant.

c) Wirkung von Äthinylöstradiol und Tetrazyklin:

Die Vorbehandlung der Versuchstiere mit Äthinylöstradiol führte zu keinem eindeutigen Synergismus oder Antagonismus des Äthinylöstradiols gegenüber der Wirkung des später verabreichten Tetrazyklins.

Die Triglyzeride im Serum lagen bei den mit Äthinylöstradiol vorbehandelten Tieren nach der Tetrazyklingabe ständig - abgesehen vom Zeitpunkt 2 Std. nach der Tetrazyklininjektion - etwas niedriger als bei den Mäusen, die nur mit Tetrazyklin behandelt worden waren. Bei der niedrigeren Tetrazyklindosis waren die Unterschiede signifikant, was dafür spricht, daß Äthinylöstradiol die hemmende Wirkung der Tetrazykline auf die Lipidsekretion der Leber verstärkt.

Die Veränderungen im Serum - Cholesterin waren weniger eindeutig. Die deutliche Abnahme des Gesamt - Cholesterins 24 Std. nach der Tetrazyklingabe spricht allerdings ebenfalls für eine stärker ausgeprägte Störung der Lipoproteinsekretion nach Äthinylöstradiol und Tetrazyklin als nach Tetrazyklin allein. Zu den früheren Zeitpunkten war ein solcher angedeuteter Synergismus jedoch nicht festzustellen. Hier machte sich der zu einer Zunahme des Serum - Cholesterins führende Effekt des Äthinylöstradiols bemerkbar und kompensierte offensichtlich die cholesterinsenkende Wirkung von Tetrazyklin.

Noch unveröffentlichte Berichte aus unserem Institut lassen erkennen, daß unter Äthinylöstradiol und Tetrazyklin auch der Cholesteringehalt der Leber stärker ansteigt als unter Tetrazyklin (50mg/kg) bzw. Äthinylöstradiol allein.

Die durch Äthinylöstradiol bewirkte Verschiebung im Verhältnis von freiem zu Gesamt - Cholesterin machte sich auch bei der kombinierten Behandlung mit Äthinylöstradiol und Tetrazyklin noch bemerkbar, und zwar 2 Std. nach der Tetrazyklingabe.

Nach 4 Std., d.h. zu der Zeit, zu der Tetrazyklin den Gehalt des Serums an unveresterten Fettsäuren erhöht, ging jedoch der Anteil des freien Cholesterins wieder auf die Normalwerte zurück.

Das relative Lebergewicht verhielt sich ähnlich wie

unter Äthinylöstradiol allein, ebenso der Wassergehalt der Leber. Offenbar hat Tetrazyklin, das in Bezug auf diese Parameter nur eine geringe Eigenwirkung besitzt, keinen Einfluß auf die durch Äthinylöstradiol verursachte Wassereinlagerung in die Leber und die dadurch (im wesentlichen) bedingte Gewichtszunahme des Organs.

6. Zusammenfassung

Auf Grund beobachteter Unterschiede in der Hepatotoxizität von Tetrazyklin bei Frauen und Männern wurden Versuche zur kombinierten Toxizität von Tetrazyklin und Östrogen an weiblichen NMRI - Mäusen vorgenommen um festzustellen, ob die hepatotoxische Wirkung von Tetrazyklin durch Östrogeneinfluß verstärkt wird.

In Vorversuchen wurde die Dosis eines Östrogens (Äthinylöstradiol) ermittelt, die eine mäßiggradige Leberschädigung verursacht (anhand von relativem Lebergewicht, Transaminasen, alkalischer Phosphatase, Harnstoff und unveresterten Fettsäuren). Diese Dosis lag bei uns bei 0,5 mg Äthinylöstradiol/kg Körpergewicht/10ml Olivenöl s.c. über 4 Tage.

Anschließend wurden - in den Hauptversuchen - 50 bzw. 100mg Tetrazyklin/kg Körpergewicht/10ml Magnesiumsulfat (1,5mMol) i.v. den mit der o.g. Östrogendosis 4 Tage lang vorbehandelten Mäusen injiziert. Nach 2, 4, 8, 24 und 48 Std. wurde das Serum der Tiere auf Triglyzeride, Cholesterin (Gesamt - und freies Cholesterin) und unveresterte Fettsäuren untersucht sowie das relative Lebergewicht und der Wassergehalt der Leber bestimmt.

Die Ergebnisse für die beiden Substanzen getrennt entsprechen in etwa den Literaturangaben:

Äthinylöstradiol verursachte eine Zunahme der Serum-

triglyzeride und einen Anstieg des Cholesterinspiegels im Serum (bes. des freien Cholesterins) sowie eine auffällige Wassereinlagerung in die Leber.

Tetrazyklin bewirkte eine Verminderung der Serum - Triglyzeride (in der höheren Dosierung) und in geringerem Maße auch des Serum - Cholesterins.

Beide Pharmaka zusammen senkten den Triglyzeridspiegel im Serum noch stärker als Tetrazyklin allein.

Die Wirkung auf das Serum - Cholesterin war uneinheitlich. Anfangs überwog die Äthinylöstradiolwirkung, d.h. es kam zur Zunahme des Cholesterins im Serum, später kam es dann zu einer Abnahme des Serum - Cholesteringehaltes z.T. im Sinne einer Verstärkung des Tetrazyklinaffektes.

Die Befunde lassen sich in dem Sinn interpretieren, daß unter dem Einfluß von hohen Östrogenspiegeln die Wirkung von Tetrazyklin auf Serum - Triglyzeride und - Cholesterin verstärkt wird.

In Bezug auf das relative Lebergewicht und den Wassergehalt der Leber ließ sich dagegen ein solcher Synergismus nicht feststellen. Bei diesen Parametern entsprach die Wirkung der Kombination von Äthinylöstradiol und Tetrazyklin weitgehend der Wirkung des Östrogens allein.

Insgesamt scheint Äthinylöstradiol, selbst in relativ hoher Dosis, das hepatotoxische Risiko von Tetrazyklin nicht wesentlich zu erhöhen.

7. Bibliographie

Adlercreutz H., Tenhunen R.

Some aspects of the interaction between natural and
synthetic female sex hormones and the liver

Am. J. Med. 49: 630 - 648, 1970

Allain C.C. et al.

Clin. Chem. 20: 470, 1974

Applebaum D.M., Goldberg A.P., Pykälä O.J., Brunzell
J.D., Hattard W.R.

Effect of estrogen in post-hepatic lipolytic activity
- selective decline in hepatic triglyceride lipase

J. Clin. Invest. 59: 601 - 608, 1977

Aprahamian S., Arslanian M.J., Stoops J.K.

Effect of estrogen on fatty acid synthetase in the
chicken oviduct and liver

Lipids 14: 1015 - 1020, 1979

Böcker R., Estler C.-J., Maywald M., Weber D.

Comparative evaluation of the effects of tetracycline
and doxycycline on blood and liver lipids on male and
female mice

Arzneim.-Forsch. / Drug Res. 31: 2118 - 2120, 1981

Breen K.J., Schenker S., Heimberg M.

The effect of tetracycline on the hepatic secretion of
triglyceride

Biochim. Biophys. Acta 270: 74 - 80, 1972

Brewer T.

Tetracycline hepatotoxicity

Brit. Med. J. 1: 995, 1965

Briggs R.C.

Tetracycline and liver disease

New Engl. J. Med. 269: 1386, 1963

Clendenning W.E.

Complications of tetracycline therapy

Arch. Dermatol. 91: 628 - 632, 1965

Clermont R.J., Chahners T.

The transaminase tests in liver disease

Medicine 46: 197 - 207, 1967

Cunha B.A., Lomer J.B., Jonas M.

The tetracyclines

Med. Clin. North Amer. 66: 293 - 302, 1982

Davis J.S., Kaufman R.H.

Tetracycline toxicity. A clinicopathologic study with special reference to liver damage and its relationship to pregnancy

Am. J. Obstetr. Gynecol. 95: 523 - 529, 1965

Doar J.W.H.

Metabolic side-effects of oral contraceptives

Clinics Endocrinol. Metabol. 2: 503 - 525, 1973

Dorfman R.J.

Pharmacology of estrogen - general

Pharmac. Ther. 9: 107 - 119, 1980

Dowling H.F., Lepper M.H.

Hepatic reactions to tetracycline

J. Am. Med. Ass. 188: 235 - 237, 1964

Editorial

Tetracycline hepatotoxicity

Brit. Med. J. 2: 1545 - 1546, 1964

Faloon W.W.

Metabolic and histologic studies in patients with and without liver disease receiving chloramphenicol and oxytetracycline

J. Lab. Clin. Med. 44: 75 - 90, 1954

Forth W., Henschler D., Rummel W.

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxokologie

Bibliographisches Institut Mannheim Wien Zürich, 2.

Aufl. 1977

Ganong W.F., Auerswald W.

Lehrbuch der Medizinischen Physiologie

Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 3. Aufl.

1974

Götz H.

Hepatotoxizität von Pyrrolidino-methyl-tetrazyklin bei gleichzeitiger Gabe von Äthinylöstradiol bzw. Testosteronpropionat

Dissertation Erlangen, 1979

Gough G.S., Searcy R.L.

Additional case of fatal liver disease with tetracycline therapy

New Engl. J. Med. 270: 157 - 158, 1964

Hansen C.H., Pearson L.H., Schenker S., Combes B.

Impaired secretion of triglycerids by the liver; a cause of tetracyclin-induced fatty liver

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128: 143 - 146, 1968

Harper H.A., Löffler G., Petrides P.E., Weiss L.

Physiologische Chemie

Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1975

Heinecke A., Hultsch E., Nienhaus R., Reisch A., Wingert F.

Biomathematik für Mediziner

Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 2. Aufl.
1976

Heywood R., Wadsworth P.F.

The experimental toxicology of estrogens

Pharmac. Ther. 8: 125 - 142, 1980

Kekki M., Nikkilä E.A.

Plasma triglyceride turnover during use of oral contraceptives

Metabolism 20: 878 - 889, 1971

Kern F., Erfling W., Simon F.R., Dahl R., Mallory A.,

Starzl T.E.

Effect of estrogens on the liver

Gastroenterology 75: 512 - 522, 1978

Kreek M.J., Peterson R.E., Sleisenger M.H., Jeffries G.H.

Effects of ethinylestradiol-induced cholestasis on
bile flow and biliary excretion of estradiol and estradiol glucuronide by the rat

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 131: 646 - 650, 1969

Kunelis C.T., Peters J.L., Edmondson H.A.

Fatty liver of pregnancy and its relationship to tetracycline therapy

Am. J. Med. 38: 359 - 377, 1965

Lauritzen C.

Östrogene in Theorie und Praxis

München o.J.

Leonard G.L.

Tetracycline and liver disease

New Engl. J. Med. 269: 1386, 1963

Lepper M.H., Wolfe C.K., Zimmerman H.J., Caldwell E.R.,

Spies A.R., Dowling H.F.

Effect of large doses of aureomycin on human liver

Am. Med. Ass. Arch. Int. Med. 88: 271 - 283, 1951

Lepper M.H., Zimmerman H.J., Carroll G., Caldwell E.R.,

Spies H.W., Wolfe C.K., Dowling H.F.

Effect of large doses of aureomycin, terramycin and
chloramphenicol on livers of mice and dogs

- Am. Med. Ass. Arch. Int. Med. 88: 284 - 295, 1951
- Lewicki Z., Wutzen J., Hagel-Lewicka E., Sulikowska A.,
Figurski R.
Histological and histochemical evidence of tetracycline hydrochloride hepatotoxicity in young rats
Mat. Med. Pol. 12: 252 - 258, 1980
- Lie T.S.
Lebererkrankungen durch hormonale Kontrazeptiva
Munch. Med. Wchschr. 124: 489 - 494, 1982
- Lindner A.
Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure
Birkhäuser-Verlag Basel, 1951
- Martini G.A.
Klinik der Arzneimittelschädigung der Leber
in: Siede W., Aktuelle Hepatologie S. 21 - 28
Karl-Demeter-Verlag München, 1974
- Metreau J.-M., Dhumeaux D., Berthelot P.
Oral contraceptives and the liver
Digestion 7: 318 - 335, 1972
- Moser H.R.
Reactions to tetracycline
Clin. Pharmacol. Therap. 7: 117 - 132, 1966
- Norman T.D., Schultz J.C., Hoke R.D.
Fatal liver disease following the administration of

tetracycline

Southern Med. J. 57: 1038 - 1042, 1964

Popper H., Rubin E., Gardiol D., Schaffner F., Paronetto F.

Drug-induced liver disease: a penalty for progress

Arch. Int. Med. 115: 128 - 136, 1965

Reuter E.

Unerwünschte Wirkungen von Tetrazyklinen

Med. Klin. 67: 1256 - 1261, 1972

Rhoades E.R.

Seminar on antibiotics VI: the tetracyclines

J. Oklahoma State Med. Ass. 74: 31 - 34, 1981

Röschlau F. et al.

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12: 403, 1974

Rössner S., Larsson-Cohn U., Carlson L.A., Boberg J.

Effects of an oral contraceptive agent on plasma lipids, plasma lipoproteins, the intravenous fat tolerance and the post-heparin lipoprotein lipase activity

Acta Med. Scand. 190: 301 - 305, 1971

Roman W., Hecker R.

The liver toxicity of oral contraceptives: a critical review of the literature

Med. J. Australia 55: 682 - 688, 1968

Schaffner F.

The effect of oral contraceptives on the liver

J. Am. Med. Ass. 198: 1019 - 1021, 1966

Schmidt E., Schmidt F.W.

Kleine Enzyfibel. Praktische Enzymdiagnostik

Boehringer Mannheim, 2. Aufl. 1976

Schultz J.C., Adamson J.S., Workman W.W., Norman T.D.

Fatal liver disease after intravenous administration
of tetracycline in high dosage

New Engl. J. Med. 269: 999 - 1004, 1963

Seto J.T., Lepper M.H.

Effect of chlortetracycline, oxytetracycline and tetracycline administered intravenously on hepatic fat content: quantitative method of study including failure of some vitamins and other drugs to mitigate effect

Antibiot. Chemoth. 4: 666 - 672, 1954

Song C.S., Rifkind A.B., Gillette P.N., Kappas A.

Hormones and the liver (The effect of estrogens, progestins and pregnancy on hepatic function)

Am. J. Obstetr. Gynecol. 105: 813 - 847, 1969

Staiger C.

Orale Kontrazeptiva: Klinische Pharmakologie, Pharmakokinetik und Arzneimittelinteraktionen

Münch. Med. Wchschr. 124: 495 - 498, 1982

Tritapepe R., Padova C.Di, Rovagnati P.

Spontaneous reversal of ethinylestradiol-induced cho-

lestasis in the rat

Experientia 36: 580 - 581, 1980

Ufer J.

Hormontherapie in der Frauenheilkunde

de Gruyter-Verlag Berlin New York, 4. Aufl. 1972

Vith W., Roggenbach H.-J.

Klinisch-chemische Untersuchungen über den Einfluß einer Tetrazyklin-Infusionsbehandlung auf Leber- und Nierenfunktion

Med. Welt 21: 76 - 80, 1970

Wahlenfeld A.W., Bergmeyer H.U.

Methoden der enzymatischen Analyse Bd. II S. 1878

Chemie-Verlag Weinheim, 3. Aufl. 1974

Whalley P.J., Adams R.H., Combes B.

Tetracycline toxicity in pregnancy - liver and pancreatic dysfunction

J. Am. Med. Ass. 189: 103 - 108, 1964

Winterling A.N., Goldman R.N.

Hepatic and renal lesions in a case of tetracycline toxicity during long-term estrogen therapy after orchiectomy

Calif. Med. 102: 314 - 316, 1965

Wruble L.D., Ladman A.J., Britt L.G., Cummins A.J.

Hepatotoxicity produced by tetracycline overdosage

J. Am. Med. Ass. 192: 6 - 8, 1965

Young D.S. et al.

Cin. Chem. 21: 278 D, 1975

Zuckerman S., Palmer A., Bourne G.

Changes in the water-content of organs and tissues as
a result of stimulation by oestradiol

Nature 143: 521 - 522, 1939

Lebenslauf

Christoph Heinrich Theodor Feiner

geboren am 6. Juli 1956 in Regensburg als ältester Sohn
des Studiendirektors Heribert Feiner und der Hausfrau
Ingeborg Feiner, geb. Götz

Sept. 1962 - Juli 1966 Luitpoldschule Amberg

Sept. 1966 - Juni 1975 Erasmusgymnasium Amberg

21. Juni 1975 Allgemeine Hochschulreife

WS 1975/76 Studium der klassischen Philologie für das
Lehramt an Gymnasien an der Universität Regensburg

SS 1976 - SS 1982 Studium der Humanmedizin an der Friedrich - Alexander - Universität Erlangen - Nürnberg

15. Juni 1982 Ärztliche Prüfung

22. Juni 1982 Approbation als Arzt

5. August 1982 Heirat mit der Logopädin Barbara Schrenk
aus Stuttgart

8. Oktober 1983 Geburt unseres Sohnes Sebastian

4. Oktober 1982 - 31. Dezember 1983 Ableistung der Wehr-
pflicht als Stabsarzt im Fliegerhorst Kaufbeuren

1. Januar 1984 - 30. April 1984 freiwillige Anschluß-
wehrübung in Kaufbeuren

Druck: Copy Center 2000
Obere Karlstraße 30
8520 Erlangen